Rev. Cubana de Ciencia Avícola, 2002, 26: 163 -166

Selección de líneas precoces: comportamiento de diferentes aislamientos de *Eimeria tenella*

E GÓMEZ, .J. G RODRÍGUEZ, TERESITA BLANDINO
Grupo de Parasitología.
Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria
Carretera de Tapaste y Autopista Nacional. Apartado 10.
San José de las Lajas. La Habana. Cuba.
E-mail: acevedo@id.censa.edu.cu

ROCÍO LARRAMENDY
Laboratorios de Investigación y Diagnóstico Aviar
Instituto de Investigaciones Avícolas.
Gaveta postal 1, Cp 17200 Santiago de las Vegas.
Ciudad de La Habana, Cuba. Tel. 57-9034, 683-3730,
Fax: 57-9080, e-mail: viiacan@ceniai.inf.cu,
http: //www.iia.cu/

RESUMEN. A partir de diferentes muestras de campo, obtenidas en distintas localidades del territorio nacional se lograron seis aislamientos de *Eimeria tenella* por medio de los métodos de transferencia de merozoitos y la inoculación de oocistos individuales en aves donantes libres de coccidia. A los distintos aislamientos se les aplicó la metodología establecida para el desarrollo de líneas precoces. El comportamiento expresado por varios de los aislamientos difirió notablemente de lo referido en la literatura, de modo que en el transcurso de reiterados pases seriados el período prepatente (pp) se mantuvo en un valor muy próximo al observado inicialmente. Sólo uno de los aislamientos, cuyo pp inicial fue de 145 horas, inició la reducción de ese indicador desde el primer pase y mantuvo tal comportamiento de forma estable en los pases seriados subsiguientes. La disminución del pp en este aislamiento en los primeros pases seriados fue brusco pero posteriormente la reducción del tiempo entre pases fue mínima.

Palabras claves: *Eimeria tenella*, coccidia, líneas prococes, pollo, raza White Leghorn.

El período prepatente, es decir, el tiempo que media entre el momento que se realiza la inoculación de los oocistos infectivos y la aparición de una nueva generación de oocistos en las heces, es una característica específica de especie de las coccidias. En el caso particular de las coccidias de la gallina doméstica este indicador está bien establecido (Reid y Long, 1979).

El período prepatente de *Eimeria tenella* fue alterado (McDougald y Jeffers, 1976) por medio de la inoculación seriada en aves libres de coccidia, de los primeros oocistos formados en cada pase, logrando la reducción de ese indicador en al menos 32 horas en el transcurso de 14 pases, como consecuencia de una evidente modificación en la segunda generación esquizogónica, atribuida (Mc Dougald y Jeffers, 1976) a una mutación genética que implicó la disminución en la cantidad y en el tamaño de los esquizontes de la segunda generación; todo lo cual condujo a una disminución significativa en la patogenicidad de la cepa modificada respecto a la cepa madre.

Este proceso denominado selección de líneas precoces, ha sido reiterado por diversos autores (Bedrnik,1997; Kawaguchi et al, 1988; Liu y Jiang, 1999; McDonald et al, 1986; Rai *et al,* 1996; Shirley y Bedrnik, 1997 y

Shirley y Harvey, 1996) para obtener líneas precoces de todas las *Eimeria spp* de coccidia de Gallus domesticus.

En la literatura sólo se ha encontrado una referencia (Bedrnik et al, 1986) en la que se indica que no se logró reducir el período prepatente de una cepa de *Eimeria tenella* autoctona de Checoslovaquia.

En el presente trabajo se ofrece información del comportamiento expresado por diferentes aislamientos de *E. tenella* autóctonos de Cuba, los cuales al ser sometidos al proceso de selección de líneas precoces, no responden en la mayoría de los casos, a los patrones de conducta que se infieren de la literatura internacional para la mayoría de las cepas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aves de experimentación

Se utilizaron 630 pollos covencionales de la raza White Leghorn con edades comprendidas entre una y tres semanas de vida .Las aves se criaron con el rigor requerido (Gómez y Rodríguez Diego, 1993) para mantenerlas libres de coccidias hasta el momento de la inoculación .

Aislamiento de parásitos

Se colectaron muestras de lotes de aves con clínica típica de cocidiosis cecal en diferentes regiones del territorio nacional. Se procedió a la recuperación (Gómez, 1983) y esporulación (Martin *et al*, 1997) de los oocistos .
Para realizar el aislamiento de la especie de interés en cada muestra, se procedió según un trabajo anterior (Gómez *et al,*1995) utilizando la metodología de inoculación de oocistos individualizados en un soporte de agar simple para la obtención de cepas puras de coccidia.
Los aislamientos obtenidos se denominaron atendiendo a la región de procedencia : Cam, Hab, Gra , Mat -1, Mat-2 y Vcl.
Se consideró como período prepatente inicial el observado a partir de la primera inoculación posterior a la realización del aislamiento .

Selección de líneas precoces

Para la selección de líneas precoces se procedió según lo descrito por Kim *et al,* (1993) y se utilizó el método de muestreo referido (Gómez *et al*, 1995) para la obtención en las heces fecales, de los primeros oocistos en cada pase .

A cada aislamiento se le hicieron al menos catorce pases y en dos casos cuyo comportamiento fue variable se realizó un número mayor de pases seriados.

RESULTADOS

El aislamiento Cam con un pp inicial de 145 horas mostró una reducción de 8 horas en el primer pase y mantuvo la tendencia de disminuir el pp, de forma estable, hasta 128 horas en el sexto pase, teniendo después algunas irregularidades, para descender nuevamente y alcanzar el menor valor (126 horas) en el duodécimo pase e incrementarse ligeramente para llegar a 128 horas en los dos pases siguientes.

Por otra parte el aislamiento Hab no sufrió modificación respecto a su pp inicial, apreciándose sólo disminución de éste en los pases 8 y 10, en los que se redujo 7 y 8 horas en ese orden, pero en los respectivos pases siguientes nuevamente aumentó, para finalmente mostrar un pp similar al observado inicialmente.

El aislamiento Gra se expresó de forma similar al Hab, con ligeras reducciones de su pp en los pases dos, cuatro, seis, siete y nueve, en tanto que en el resto de los pases el pp fue similar al obtenido al inicio (142 horas) e incluso superior como puede observarse en los pases ocho, diez y doce.

En tanto los aislamientos Mat-1, Mat-2 y Vcl mostraron un comportamiento muy parecido; con leves reducciones intercaladas en la sucesión de pases y como regla general el incremento de este indicador en los siguientes con valores muy próximos e incluso superiores a lo observado inicialmente.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo no se corresponden con los referidos por diversos autores (Bedrnik, 1997; Kawaguchi *et al*, 1988 ; Kim *et_al,* 1993 ; McDonald *et al,* 1982 ; Rao *et al,* 1999; Shirley, 1996 y Suls, 2000) respecto a la utilización del método de selección de líneas

precoces en una reducción considerable del pp y la disminución de la patogenicidad de diferentes cepas trabajadas.De acuerdo con los resultados cinco de los aislamientos mostraron un pp similar al observado inicialmente, después de 14 pases seriados y sólo uno de ellos disminuyó ese indicador 18 horas en igual número de pases. Este evento pudiera tener su explicación en los cambios del material genético que pueden ocurrir, tanto numérica como dimensionalmente en los esquizontes de la segunda generación de *E. Tenella.* Esta fase, reconocida como agresiva en el ciclo de la coccidia, se ve afectada por la mutación con la consiguiente disminución de la patogenicidad de la cepa (McDougald y Jeffers, 1976).

Este concepto ha perdurado por más de dos décadas, pues ciertamente la selección de líneas precoces ha sido practicada con éxito en varios laboratorios a partir de cepas de las diferentes especies de coccidia de la gallina doméstica y de diversas cepas correspondientes a una misma especie.

En este mismo orden de pensamiento es notorio el hecho de que cepas mantenidas en el laboratorio durante varias décadas por pases cada seis meses, al cabo de ese tiempo dieran origen a una línea precoz, como es el caso de la cepa H (Housthon).

De los resultados reflejados en la literatura puede inferirse que las mutaciones que dan origen a cepas atenuadas por desarrollo precoz es una característica universal de las coccidias y que a partir de cualquier cepa salvaje puede lograrse la atenuación. No Obstante las observaciones de los autores del presente trabajo entran en contradicción con esa idea general. Los resultados de este trabajo y otros anteriores (Bedrnik *et al*, 1986) indican que no todas las cepas de coccidia poseen este caracter por lo que parece ser que la previa selección natural tiene una función importante.

Selection of precocious line: behaviour of different *Eimeria tenella* isolates

ABSTRACT. Samples of coccidia from infected birds of different regions of the country were examined. Six isolations of *Eimeria tenella* were obtained using merozoites transference and inoculation of isolate oocysts method and they were processed by precocious lines technic. Only one strain altered its developmental rate at passage 14th when showed a prepatent period of 128 hours.

Key words: *Eimeria tenella,* coccidia, precocious lines, chick, White Leghorn race

REFERENCIAS

BEDRNIK, P.; J. KUCERA, P. JURKOVIC, A. FIRMANOVA, AND L. R. MCDOUGALD, 1986. Results of experiments on pathogenicity and immunization with selected lines. Research in avian coccidiosis. Proceedings of the Georgia Coccidiosis Conference, 18-20 November 1985. pp : 510-525.

BEDRNIK, P.1997. Livacox vacuna viva atenuada contra la coccidiosis de las aves de corral. Manual técnico para el uso en producción de pollos de *carne.Biopharm*, República Checa, pp. 1-10.

GÓMEZ, E. 1983. *Eimeria tenella* : Caracterización de las fases exógenas y endógenas .Control químico en Cuba.Tesis para la obtención del grado de Dr. en Ciencias Veterinarias . Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, La Habana.

GÓMEZ , E. Y J. G. RODRÍGUEZ. 1993. Inmunización contra *Eimeria tenella.* III. Evaluación de la proteción en aves vacunadas. Rev. Salud. Anim.

15 (1) : 197 - 203.

GÓMEZ, E.; ROCIO LARRAMENDY; A. PÉREZ, B. SZCZYPEL, Y MIRELLA JAY., 1995. Aislamiento y caracterización de cepas de *Eimeria spp* de *Gallus domésticus.* Rev. Salud Anim. 17: 113 - 121.

KAWAGUCHI , H . T. KONISHI, T. NAKAMURA, 1988. Characteristics of a precocious line of Eimeria tenella: pathogenicity and endogenous development. Jap. Journal of Vet. Sci. 50 (2): 445-452 .

KIM ,K.S ; H.S LEE, G.S CHUNG, S.H. CHOI, AND S. H. KIM. 1993. Attenuation of *Eimeria tenella* by selection for precocious development and evaluation of the pathogenicity and immunogenicity of the precocious line in chickens. RDA. *Journal of Agricultural Sci .Vet.* 35(2): 595-603 .

LIU , Q. J.S. JIANG, 1999. Endogenous developmental stages and pathogenicity of a precocious strain of Eimeria tenella. Chinese Journal of Vet.Sc.19 (6): 569-571.

MCDONALD , V., S. BALLINGALL, M.W. SHIRLEY., 1982. The endogenous development of virulent strains and attenuated precocious lines of *Eimeria tenella and E. necatrix* . *J. Parasitol. 73 (5): 993 - 997.*

MCDONALD, V. ; M. W. SHIRLEY, B.J. MILLARD, 1986. A comparative study of two lines of *Eimeria tenella* attenuated either by selection for precocious development in the chicken or by growth in chicken embryos. *Avian Pathol*.15 (3):323-335

MCDOUGALD, L.R. AND T.K. JEFFERS, 1976. *Eimeria tenella* (Sporozoa,Coccidia): gametogony following a single asexual generation. Science . 192 (4236):258-259.

MARTIN, A. G., H. D. DANFORTH, J. R. Barta and M.A. FERNANDO., 1997. Analysis of immunological cross protection and sensitivites to anticoccidial drugs among five geographical and temporal strains of *Eimeria máxima . J. Parasitol.* 27(5): 527- 533.

RAI, R. B ; S. SENANI , S.P.S AHLAWAT ; GUPTA ASHOK , A. GUPTA , 1996. Studies on development of vaccine against fowl coccidiosis. Indian Vet. Journal. 73 (2): 181-183 .

REID, W. M. Y P. R. LONG 1979 : A diagnostic chart for nine species of flow coccidia research report 335. The University of Georgia. College of Agriculture. Experiment Station.

RAO, J.R.; A.K. MISHRA., AND R.R. KULKARNI, 1999. Development of a precocious strain of Eimeria tenella: preliminary observations. Journal of Vet. Parasitol. 13 (2): 107 - 110.

SHIRLEY, M.W. 1996. Biological principles of live, attenuated vaccines. *Magy.Allatorv.Lapja.* 51(1): 23-29.

SHIRLEY, M.W. AND P. BEDRNIK. 1997. Live attenuated vaccines against avian coccidiosis: Success with precocious and egg-adapted lines of *Eimeria*. *Parasitol. Today*. 13 (12): 481-484.

SHIRLEY , M. W ; AND D. A. HARVEY, 1996. *Eimeria tenella*: genetic recombination of markers for precocious development and arprinocid resistance . Applied Parasitol . 37(4): 293 -299 .

SULS, L. 2000. La batalla contra la coccidiosis continúa.Avicultura Profesional.18(3):30-32.